

DAS SCHÄDIGUNGSMUSTER DES PERIPHEREN
NERVEN NACH EXTRAKORPORALER
HYPERTHERMER EXTREMITÄTENPERFUSION

von

JOACHIM LUX

aus

BAD SALZUFLEN

1904

Diss. Erlangen

1004/170

Aus dem Institut für Pathologie und pathologischer Anatomie
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. med. V. Becker)

DAS SCHÄDIGUNGSMUSTER DES PERIPHEREN NERVEN NACH EXTRAKORPORALER HYPERTHERMER EXTREMITÄTENPERFUSION

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

JOACHIM LUX

aus

BAD SALZUFLEN

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen - Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. med. F. Wolf
Referent: Prof. Dr. med. B. Kaduk
Korreferent: Prof. Dr. med. V. Becker
Tag der mündlichen Prüfung: 19.03.1984

Meiner Frau Viola in Liebe

gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Material und Methode	3
Ergebnisse	
A Veränderungen 1h post perfusionem	7
B Spätveränderungen nach 5 Tagen	12
Diskussion	16
Zusammenfassung	25
Abbildungen	27
Literaturverzeichnis	49

EINLEITUNG

Die regionale extrakorporale hypertherme Zytostatikaperfusion stellt eine neuere Therapieform der malignen Melanome an Extremitäten dar. Bei gleichzeitigem Organerhalt hat sie die Überlebensrate verbessert.

Die 3-Jahres-Überlebensraten bei Patienten mit malignem Melanom im klinischen Stadium II und dem pathologischen Stadium 2 (mit regionalen Lymphknotenmetastasen) betragen nach hyperthermer Perfusion mit einem Zytostatikum im Anschluß an chirurgische Intervention $72 \pm 18 \%$. Im Vergleich dazu liegt die 3-Jahres-Überlebensrate bei alleiniger Excision und Lymphknotendissektion bei nur $29 \pm 15 \%$ (TONAK, 1981).

Erste Berichte über Auswirkungen der Hyperthermie auf Tumorgewebe stammen aus dem vorigen Jahrhundert. BUSCH (1866) beschreibt die Zerstörung eines Sarkoms nach hohem Fieber, welches durch ein Erysipel verursacht wurde. Bestärkt durch Beobachtungen über Spontanremissionen tumoröser Erkrankungen (BRUNS, 1887; COLEY, 1906) entstanden Therapiemodelle wie Teil- und Ganzkörperüberwärmung im Wasserbad (GOETZE, 1931), Hyperthermie durch Injektion von Bakterien (Coley's Toxins).

Seitdem nahm die Diskussion über Behandlungsversuche durch Hyperthermie ständig zu, einen Durchbruch als klinische Methode erlangte sie jedoch erst nach Untersuchungen mit naturwissenschaftlichen Methoden über die Wechselwirkungen zwischen Hyperthermie und Tumor- bzw. Normalgewebe (CAVALIERE, 1967; MONDOVI, 1969).

Trotz nicht vollständig gesicherter Mechanismen der hyperthermiebedingten Tumorregression sind bis heute mehrere klinische Verfahren entwickelt und in klinischer Anwendung. Morphologische Studien der verfahrensspezifischen Nebenwirkungen am perfundierten gesunden Gewebe liegen nicht vor, obwohl die Komplikationsrate passagerer und permanenter Schäden in Therapie wie im Experiment erheblich ist.

MATERIAL UND METHODE

Versuchsanordnung:

Die tierexperimentellen Versuche wurden an der Chirurgischen Universitätsklinik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg durchgeführt.

Das Versuchskollektiv umfaßt 66 Bastard-Schäferhunde mit einem Durchschnittsalter von 2,8 Jahren $\pm$ 8 Monaten und einem durchschnittlichen Körpergewicht von 30 $\pm$ 4 kg. Da 21 Tiere (32 %) frühzeitig auf Grund verschiedener Ursachen verendeten, stützen sich die vorliegenden Ergebnisse auf Untersuchungen an 45 Hunden. Dieses 45-iger Kollektiv gliedert sich in 3 Gruppen zu 15 Tieren entsprechend der 3 Perfusionstemperaturen von 37°, 40° und 43°C. Jede aus 15 Tieren bestehende Einzelgruppe wurde wieder unterteilt in 3 Gruppen zu je 5 Hunden, wobei jede Gruppe sich durch ein unterschiedliches Perfusionsmedium auszeichnet.

Perfundiert wurde zum einen mit Eigenblut, zum zweiten ausschließlich mit dem Lösungsmittel Propylenglykol und zum dritten mit der Kombination des Lösungsmittels und dem Zytostatikum Melphalan (Alkeran^R).

Die Perfusionsversuche wurden jeweils an einer hinteren Extremität durchgeführt nach Ausschaltung des Blutkreislaufs durch einen Tourniquet. Melphalan wurde in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht angewandt, das Lösungsmittel Propylenglykol in einer Dosierung von 0,2 ml/kg Körpergewicht. Die Messung der Gewebetemperatur erfolgte über Thermosonden. Während der Perfusion wurden zu 3 Zeitpunkten Blutgasanalysen entnommen. Durch Leckbestimmungen mit radioaktivem Chrom-

albumin wurde die komplette Abriegelung vom Rumpf kontrolliert. Die Nervenleitgeschwindigkeit wurde sowohl an der perfundierten als auch an der nicht perfundierten Extremität gemessen.

Beobachtungsdauer bzw. Versuchszeit:

Durch das frühzeitige Verenden von 21 Versuchstieren wurde die Überlebenszeit der Tiere nach Perfusion auf 5 - 7 Tage begrenzt. Die Gewebeproben wurden vor Perfusion und nach durchgeführter Perfusion entnommen. Als Kontrolle diente jeweils Gewebe von der kontralateralen Seite der perfundierten Extremität.

Material für licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung:

Von den 66 Versuchstieren wurden insgesamt 111 Gewebeproben aus dem Plexus Ischiadicus zur licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung entnommen. Von den für die Auswertung verwandten 45 Tieren wurden in jeder Gruppe von jedem Tier durchschnittlich jeweils 5 Proben gewonnen.

Präparation der Gewebeproben zur elektronenmikroskopischen Untersuchung:

Nach der Gewebeentnahme wurden Blöcke von ca. 1 mm Längslänge geschnitten und in gepufferter 2,5 %iger Glutaraldehydlösung 2 Stunden lang fixiert. Anschließend wurden die Gewebblöcke in Millonig-Puffer ausge-

waschen. Nach der Postfixation in 1 %iger gepufferter OsO_4 -Lösung bis zur Schwärzung des Gewebes wurde das Gewebe in 30-, 60- und 70 %igem Aceton jeweils 10 Minuten lang entwässert und anschließend en bloc in frisch angesetzter 70 %iger Aceton-Uranylacetatlösung en bloc für ca. 60 Minuten kontrastiert. Danach wurde die Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe in zweimal je 10 Minuten in 70-, 90- und 100 %igem und absolutem Aceton fortgesetzt.

Als Einbettungsmedium für die Gewebeproben wurde das Kunstharzmaterial Epon-812 genommen. Zur Polymerisation wurden die Kapseln über Nacht im Brutschrank bei 56°C belassen und anschließend 24 Stunden lang bei 65°C auspolymerisiert.

Die den Gewebeblock umschließende Gelatine kapsel wurde vor Weiterverarbeitung in heißem Wasserbad mittels Ultraschall beschleunigt abgelöst. Jeder Gewebesblock wurde mit einem Trimmgerät TM 602-Reichert zur Pyramide angetrimmt.

Die insgesamt 380 Semidünnschnitte wurden mit Glasmessern für die lichtmikroskopischen (Vor-) Untersuchungen an den Ultramikrotomen "UM U2" "UM U3"-Reichert angefertigt.

Die Anfärbung dieser Präparate erfolgte mit einer Methylenblau-Azur-II-Farblösung nach Richardson.

Entsprechend der lichtmikroskopischen Befunde wurden 50 Gewebeproben zur weiteren elektronenmikroskopischen Präparation ausgewählt. Nach Auszeichnen der gewünschten Präparatstelle erfolgte das Feintrimmen mit einer Bügelklinge unter Sicht, so daß die Gewebesblöcke eine Kantenlänge von ca. 0,5 mm erhielten. Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Diamantmesser an einem Ultramikrotom UM U3 oder an einem "Ultracut"-Reichert

hergestellt und auf Kupfernetzen aufgefangen. Die Schnittkontrastierung erfolgte als Doppelkontrastierung zunächst mit 50 %ig alkoholischer, gesättigter Uranylacetatlösung und danach mit Bleicitrat.

Die nach dieser Methode hergestellten Ultradünnschnitte wurden in einem Elmiskop 101 begutachtet und auf Filmplatten fotografisch dokumentiert.

ERGEBNISSE

A Veränderungen 1h post perfusionem

1) Temperatur 37°C

- a) Perfusat Eigenblut
- b) Perfusat Lösungsmittel
- c) Perfusat Alkeran

a) Perfusion mit Eigenblut

Nach extrakorporaler Perfusion mit körperwarmen Eigenblut entsprechen die elektronenmikroskopischen Befunde den Normalbefunden, die zur Kontrolle von Gewebeproben der nicht perfundierten Extremität angefertigt wurden. Es findet sich eine intakte Basalmembran der Schwannschen Zelle (Begleitgliazellen), die jeweils nur ein Axon bei Markfasern, mehrere Axone bei marklosen Nervenfasern umhüllen.

Das kompakte Myelin der bemerkten Nerven ist regelmäßig angeordnet, die alternierenden periodischen Hauptlinien (major dense lines) und intraperiodischen Zwischenlinien sind gut abgrenzbar.

Das innere Mesaxon (Axolemm-Grenzmembran des Axon) ist mit der Markscheide verbunden, die intra-axonale Strukturen sind unverändert (normale Matrix der Mitochondrien des Cytoplasma der Schwannschen Zelle).

b) Perfusion mit Lösungsmittel

Die geordnete Struktur der Markscheiden beginnt sich aufzulösen, die Verschmelzung der Membrananteile zum kompakten Myelin ist teilweise aufgehoben. Es treten

Anordnungen auf, wie sie beim unreifen Myelin beschrieben werden: Die Unterscheidung in periodische und intraperiodische Linien ist nicht mehr möglich, es treten Cytoplasmasäume zwischen einzelnen Markscheidenanteilen auf (SLUGA, 1974) sowie interlamelläre Ödeme. Des weiteren tritt eine diskrete interlamelläre Vakuolisierung auf und das innere Mesaxon hebt sich von der Markscheide ab.

Wie bei der Perfusion mit Eigenblut bleiben auch bei Lösungsmittelperfusion die axonalen Innenstrukturen unverändert, die marklosen Nervenfaszikel zeigen ebenfalls normale Strukturen.

c) Perfusion mit Alkeran

Die normotherme Perfusion mit dem Zytostatikum Alkeran bewirkt morphologische Veränderungen, vor allem der markhaltigen Nervenfaszikel, während die marklosen weitgehend intakt bleiben.

Bei einzelnen Präparaten konnten wir eine komplette Zerstörung der Myelinscheide feststellen, an deren Stelle nunmehr eine Zusammenlagerung von Myelinlamellen zu ungeordneten, knäueelförmigen Formationen zu sehen ist, in denen die intraaxonalen Strukturen völlig verschwinden (Abb. 1).

In den meisten anderen bemarkten Nervenfaszikeln ist das Hauptschädigungsmuster ähnlich der Versuchsreihe mit dem Lösungsmittel: Das innere Mesaxon hebt sich von der Markscheide ab, es entstehen herdförmige Wabenmuster durch Zusammenlagerung von Lamellenfragmenten, interlamelläre Ödeme treten vermehrt auf. Auffallend ist eine Verbreiterung des Cytoplasmasaumes der Schwannschen Zellen mit weitgehender Zerstörung der Mitochondrien (leere Vakuolen) und ein Ödem des Endoneuriums (Abb. 2).

Als ganz diskretes Schädigungsmuster markloser Axone

erscheint vereinzelt eine Vakuolenbildung, wobei es sich um zerstörte Mitochondrien handeln könnte.

2) Temperatur 40°C

- a) Perfusat Eigenblut
- b) Perfusat Lösungsmittel
- c) Perfusat Alkeran

a) Perfusion mit Eigenblut

Bei der Perfusion mit dem auf 40°C erwärmten Eigenblut finden wir bei marklosen Nervenfasern überwiegend normale Verhältnisse, die äußeren Konturen *e i n z e l n* - *e r* bemerkter Nervenfasern sind noch erhalten, die Bestandteile jedoch nekrobiotisch.

Die Myelinscheiden sind teilweise flächenhaft verklumpt und lamellenartig verschichtet, wobei sich eine völlige Zerstörung der Axonzylinder findet. Das schon bei normothermer Perfusion mit Alkeran auftretende Ödem des Endoneuriums tritt jetzt schon bei Eigenblutperfusion auf, wobei das Ödem von Membranfragmenten nicht zu bestimmenden Ursprungs durchsetzt ist.

b) Perfusion mit Lösungsmittel

Die Perfusion mit Propylenglykol bewirkt bei 40°C ein fleckförmiges Ödem zwischen marklosen Nervenfasern, die neben Normalbefunden auch Zeichen von Axonveränderungen aufweisen, wie sie sich an Vakuolenbildungen und dem Auftreten elektronendichten Materials erkennen lassen.

Bemerkte Nervenfasern zeigen eine Auflösung der Myelinscheiden bis zu deren völligem Verlust (Abb. 3).

Die Myelinlamellen splittern auf, sind teilweise rupturiert und umstrukturiert. Innerhalb des Axon kommt es zur Bündelung fragmentierter und kondensierter Lamellen (Abb. 3).

Die Axonzylinder sind zusammengesintert, teilweise sind sie nicht mehr auffindbar, die Mitochondrien innerhalb der Axone sind degeneriert (Abb. 4).

c) Perfusion mit Alkeran

Neben den bei Perfusion mit Eigenblut und Lösungsmittel beschriebenen Veränderungen kommt es bei Zytostatikumperfusion zu einer deutlicheren Homogenisierung der Markscheiden. Es fallen besonders die Umstrukturierung der Lamellen in rundliche Myelinfiguren mit tubulären Lichtungen auf (Abb. 5).

3) Temperatur 43°C

a) Perfusat Eigenblut

b) Perfusat Lösungsmittel

c) Perfusat Alkeran

a) Perfusion mit Eigenblut

Die Perfusion mit dem auf 43°C erwärmten Eigenblut führt zu schwerwiegenden Veränderungen sowohl markloser als auch markhaltiger Nervenfaszikel. In marklosen Nervenfaszerbündeln zeigt sich eine protozoenähnliche Konfiguration der Außenkonturen, wobei es sich um Vorstülpungen der Basalmembran handeln dürfte (Abb. 6). Die Grundmatrix weist starke Kondensation auf mit blasigen Lysiszonen und axonleeren Nischen, das Endoneurium ist ödematös aufgequollen.

Markhaltige Nervenfaszikel sind bei dieser Temperatur teilweise völlig zerstört. Die äußeren Konturen sind kaum noch auszumachen: Diffuse Verklumpung der Markscheiden, grobscholliger Zerfall der Axone und der Myelinscheiden und ein kompletter Verlust der Binnenmatrix zeigen die erheblichen Schädigungen durch die erhöhte Temperatur.

In noch erhaltenen Abschnitten der Myelinscheiden findet sich eine flächenhafte Homogenisierung (Abb. 7). Teilweise begrenzen nur noch ungebundene Reste von Myelinlamellen ein seenartiges, axonleeres Vakuum (Abb. 8).

b) Perfusion mit Lösungsmittel

Im Vergleich zur Eigenblutperfusion ist bei dieser Versuchsreihe kein signifikanter Unterschied festzustellen, es findet sich das gleiche Schädigungsmuster markloser und markhaltiger Nervenfaszikel.

c) Perfusion mit Alkeran

Die Zytostatikaperfusion zeigt bei dieser Temperatur noch eine Steigerung der Schädigung des peripheren Nervens. Neben den bei Eigenblut- und Propylenglykolperfusion festgestellten Veränderungen fällt zusätzlich ein hochgradiges interstitielles Ödem des Endo- und Epineuriums auf sowie die Aufspaltung der Perineurallamellen durch interlamelläre Ödeme, hervorgerufen wohl auch durch Cytoplasmabrüche.

B Spätveränderungen nach 5 Tagen

1) Temperatur 37°C

- a) Perfusat Eigenblut
- b) Perfusat Lösungsmittel
- c) Perfusat Alkeran

a) Perfusion mit Eigenblut

Die Veränderungen der Nervenzellen 5 Tage nach Perfusion unterscheiden sich bei der Eigenblutperfusion nicht von dem Zustand der Zellen 1 Stunde nach der Perfusion. Es findet sich wiederum ein Befund vergleichbar den Kontrollen von Gewebeproben der kontralateralen, nicht perfundierten Extremität.

b) Perfusion mit Lösungsmittel

Zu den Frühveränderungen kommt jetzt eine flächenhafte interstitielle Ödembildung, die nach 1 Stunde Perfusion aufgetretene Vakuolisierung der Markscheide scheint verstärkt zu sein.

Die interlamellären Cytoplasmaeinbrüche treten nun deutlicher hervor.

c) Perfusion mit Alkeran

Neben den Frühveränderungen zeigt sich in den Übersichtsaufnahmen eine Verbreiterung des Epineuralraumes, weitgehende Zerstörung des Perineuriums und ein Ödem des Endoneuriums. Deutlich wird auch die Verschiebung der Relation Markscheide/Axon zuungunsten des Axon. Weiterhin fallen multiple Einblutungen aus Endoneuralgefäßen auf.

2) Temperatur 40°C

- a) Perfusat Eigenblut
- b) Perfusat Lösungsmittel
- c) Perfusat Alkeran

a) Perfusion mit Eigenblut

Im Gegensatz zu den Frühveränderungen nach einstündiger Perfusion zeigen sich nunmehr neben unveränderten marklosen Nervenfaszikeln solche mit lamellär kondensierten Neurofilamenten und Verklumpung der cytoplasmatischen Organellen. Die Ordnung der Schwannzellfortsätze eines marklosen Nervenfaserbündels geht zunehmend über in Büngner-Band-ähnliche Formationen und es bilden sich axonleere Nischen (Abb. 9).

Die Veränderungen an bemerkten Nerven treten nun signifikant hervor (im Vergleich zur Sofortwirkung). Bei erhaltener Basalmembran erscheinen im ballonierten Cytoplasma osmiophile und membranöse Elemente. Neben Mitochondrien mit fast vollständiger Matrix finden sich Vakuolen aus untergegangenen Mitochondrien und anderen zerstörten Zellkompartimenten (Abb. 10 und 11).

Die Markscheiden großkalibriger Axone lösen sich partiell auf und die Schwannzellfortsätze sind zwiebelschalenartig angeordnet. Axonale und cytoplasmatische Strukturen scheinen vermehrt, das Endoneurium ist hochgradig ödematös aufgelockert (Abb. 12).

b) Perfusion mit Lösungsmittel

Hier finden wir die gleichen Veränderungen wie bei Eigenblutperfusion.

c) Perfusion mit Alkeran

Im Vergleich zu den beiden anderen Perfusionsmedien sind bei 40°C und Zytostatikaperfusion nach 5 Tagen die Myelinscheidenlamellen stärker homogenisiert. Es kommt neben den schon beschriebenen Veränderungen zur Aufteilung der Myelinscheide in Zonen unterschiedlicher Strukturierung und Abhebung der inneren Lamellen (Abb. 13), die sich zu Ringformationen und Wabenmustern umlagern. Das Axoplasma wird durch die ödematöse Markscheide und deren Abbauprodukte erheblich komprimiert (Abb. 14).

Im Axoplasma sehen wir die Zerstörung einzelner Mitochondrien und die Bildung bizarrer, osmiophiler Körper (Abb. 15).

3) Temperatur 43°C

a) Perfusat Eigenblut

b) Perfusat Lösungsmittel

c) Perfusat Alkeran

Die Zellveränderungen 5 Tage nach Perfusion mit den auf 43°C erhitzten Perfusaten sind gleichartig, die Unterschiede zu den Sofortveränderungen sind nicht signifikant.

Deutlich wird bei einigen großkalibrigen markhaltigen Nervenfasern die Dekompensation der Lipoproteidschichten der Myelinscheide zu Formationen, die unreifem Myelin ähnlich sind (Abb. 16). So treten verstärkt bikonische Spalträume in den Markscheiden auf, im äußeren Drittel der Markscheide finden sich sichelförmige Spalträume und Cytoplasmaeinbrüche (Abb. 17).

Diese grobblasige interlamelläre Auflockerung zeigt

sich bei allen noch relativ gut erhaltenen Nervenfasern (Abb. 18 und 19). Bei anderen wiederum umgrenzt eine gewundene Basalmembran mit fingerartigen Protrusionen mit Kollagentaschen eine homogenisierte Axonbinnenmatrix, in der feingranuläre, schwach osmophile Körper und einzelne zerstörte Mitochondrien sind (Abb. 20). Daneben findet man auch bei erhaltener Markscheide hochgradige Degenerationen der Axonzylinder (Abb. 21).

Es fällt eine Vermehrung vesikulärer Formationen, ein netzförmiges Zusammensintern von Membrananteilen in einer hellen, wolkigen Grundsubstanz auf, die auch bei starker Vergrößerung keine intakten Neurofilamente und Mitochondrien mehr erkennen läßt (Abb. 22).

DISKUSSION

DIETZEL (1978) unterteilt die Hyperthermie in eine m i l d e H y p e r t h e r m i e (39° - 41°C) und eine e x t r e m e H y p e r t h e r m i e (ab 42°C). Dabei ist es gleichgültig, ob es sich um eine systemische Temperaturerhöhung des Gesamtkörpers oder eine lokale Erhöhung eines bestimmten Areals handelt, zum Beispiel eines Organs, einer Extremität oder eines Tumors. Die verschiedenen Stadien der Verbrennungen lehren uns, daß Temperaturerhöhungen um nur wenige Grade über die Norm in biologischen Geweben auch schwerwiegende funktionelle und morphologische Veränderungen zur Folge haben und in eine Totalnekrose einmünden können. Hieraus leitet sich grundsätzlich die Idee der therapeutischen Anwendung der Hyperthermie ab. In Zusammenarbeit m Zytostatika wurden Therapiemodelle entwickelt, die auf folgenden Überlegungen basieren:

1. Auf Grund reduzierter Durchblutung bei lokaler Hyperthermie werden manche Tumoren stärker erwärmt als normales Gewebe.
2. Neoplastische Zellen scheinen auf Hitze empfindlicher zu reagieren als normale Zellpopulationen.
3. Hypoxische Zellen sind thermosensibler als Zellen mit regelhaftem Sauerstoffgehalt.
4. Substratmangel erhöht die Hitzeempfindlichkeit.
5. Niedriger pH steigert die Thermolabilität.
6. Die Kombination von Hyperthermie und Zytostatika potenziert die therapeutische Antwort (ROSSI-FANELLI, 1977; FIELD u. BLEEHEN, 1979).

Diese Abhängigkeiten sind in mehreren Studien

(GERWECK u. ROTTINGER, 1976; TWENTYMAN u. BLEEHEN, 1975) erarbeitet worden und führten zur Krebs-Mehrschritt-Therapie (ARDENNE v., 1981). Schon bei in vitro- und in Tierversuchen wurde dabei die enge therapeutische Breite der externen Hyperthermie festgestellt, so daß grundsätzlich als obere Grenze eine Temperatur von 42°C angesehen wird (GOSS u. PARSONS, 1977; MORRIS, 1977).

Die günstigen Ergebnisse bei subtiler Anwendung der hyperthermen Zytostatikaperfusion (SCHRAFFORDT-KOOPS, 1977; STEHLIN, 1977; TONAK, 1981) haben dieses Verfahren zu einer klinisch anerkannten Methode werden lassen, die jedoch mit einer nicht geringen Komplikationsrate belastet ist.

Nebenwirkungen wurden schon zuvor in tierexperimentellen Studien beschrieben (BABA, 1976), ließen jedoch nicht Schädigungen am peripheren Nerven erkennen, die aus klinischen Kontrolluntersuchungen zu erwarten und zu erkennen waren (STEHLIN, 1979; TONAK, 1981) und sich in Form von passageren Parästhesien und permanenten Paresen äußerten. Andauernde Paresen werden mit einer Rate von 0,3 - 7 % beschrieben, vorübergehende Parästhesien mit 30 % angegeben (TONAK, 1981).

Eine derartig hohe Komplikationsrate zeigt sich auch bei unseren tierexperimentellen Untersuchungen. Von 66 Versuchstieren verstarben 21 frühzeitig, so daß sich die vorliegenden Ergebnisse auf Untersuchungen an 45 Tieren stützen. Der Funktionszustand des peripheren Nerven am Beispiel des N. ischiadicus wurde anhand der Nervenleitgeschwindigkeit beurteilt (HERMANEK, 1981). Neben einem signifikanten Abfall der Nervenleitungsgeschwindigkeit für die A α -Welle des Nervus ischiadicus an der perfundierten Extremität fiel auch ein Verlust von langsamer leitenden Faseranteilen auf. Dies spricht

sowohl für eine deutliche Funktionseinschränkung der Myelinscheide als auch für eine direkte Schädigung des Axon.

Mit diesen Ergebnissen korrelieren unsere morphologischen Untersuchungen, die neben rein axonalen Schädigungsmustern demyelinisierende Veränderungen und ein synchrones Auftreten von beiden aufweisen.

Als Ursachen für die beschriebenen funktionellen Nervenschädigungen führt HERMANEK (1981) Hypoxie, toxische Wirkung des Melphalan, Druckschädigung und thermische Schädigung des Nerven an. Da bei unseren Versuchen durch regelmäßige Blutgasanalysen eine Gewebshypoxie auf Grund eines zu niedrigen O_2 -Partialdrucks ausgeschlossen werden kann, treten Zirkulationsstörungen in der Endstrombahn - hier insbesondere der Endoneuralgefäße - wegen lokal begrenzter Gewebsnekrosen als auslösender Faktor in den Vordergrund: Ischämie durch Gefäßverschluß und Kompression der Kapillaren auf Grund eines ausgedehnten interstitiellen Ödems würden naturgemäß zu einer irreversiblen Veränderung führen und damit eine bleibende neurologische Schädigung erklären. Die in der gleichen Untersuchungsreihe festgestellten morphologischen Veränderungen an Arterien, Venen und Kapillaren weisen darauf hin (KROPP, 1983). Auch die Kompression des Nerven durch ein interstitielles Ödem, welches bei den Versuchen in 13 Fällen als leicht, 14 Mal mittelstark und 18 Mal als schwer klassifiziert wurde, führt zu einer Schädigung des Nerven. HERMANEK (1981) nimmt als wesentlichen Faktor für die Erklärung neurologischer Komplikationen den erhöhten kolloidosmotischen und transmuralen Druck an, der bei Verwendung verschiedener Spülflüssigkeiten zu postoperativen Ödemen führt. Desweiteren kann durch Abbinden mit dem Tourniquet im Extremfall ein "closed compart-

ment compression"- oder ein "Tourniquet-Syndrom" entstehen. Hierdurch lassen sich teilweise die stark ausgeprägten Schädigungen des peripheren Nerven erklären, die einer Wallerschen Degeneration nach proximaler Nervendurchtrennung entsprechen.

Eine Neurotoxizität am peripheren Nerven ist von Melphalan nicht bekannt. Als alkylierende Substanz verändert Melphalan (Alkeran^R) durch Anlagerung aliphatischer Radikale die DNA. Es ist das am meisten verwendete Zytostatikum bei dieser Therapieform (TONAK, 1981). In vitro -Untersuchungen an Tumorzellen und gesundem Gewebe ergaben nach vierstündiger Behandlung mit verschiedenen Konzentrationen von Alkeran^R, daß bei einer Temperatur von 42°C ein akzeptables Überleben gesunden Gewebes gewährleistet ist (GOSS u. PARSONS, 1977). Der Anstieg der zellulären Sensibilität für verschiedene Zytostatika durch Hyperthermie führt zur Denaturierung der Proteine (WESTRA u. DEWEY, 1977), vor allen Dingen zur Denaturierung von Proteinen in der mitotischen Spindel. Obwohl der Nerv als postmitotisches Gewebe in dieser Weise primär nicht getroffen wird, scheint dennoch auf Grund der morphologischen Veränderungen der Einfluß von Alkeran^R zumindest bei normothermen und mittleren Temperaturen erheblich zu sein. Dies läßt sich vielleicht durch die Toxizität auf die endoneuralen Blutgefäße und den Eingriff des Zytostatikums in den Stoffwechsel der Schwannschen Zelle erklären. SLUGA (1974 und 1977) beschreibt bei demyelinisierenden Erkrankungen als Antwort auf die Schädigung Veränderungen der Schwannschen Zellen in Form von Zwiebschalenbildungen und Regeneratkolben. Bei unseren Untersuchungen fanden wir diese Veränderungen nur selten und angedeutet. Dies ist durch die Kürze des

Beobachtungszeitraumes von 5 Tagen zu erklären. Dieser Zeitraum erscheint für die genannten proliferativen Veränderungen zu kurz zu sein. Andererseits ist von anderen Zytostatika bekannt, daß sie in Verbindung mit Hyperthermie eine Regenerierung einschränken (HAHN, 1978).

WARNICK et al. (1977) bewiesen den direkten neurotoxischen Einfluß der Mitosegifte Colchicin und Vinblastin an Hand der Unterbrechung des axonalen Flusses in Tierversuchen, was in Einklang mit verschiedenen Neuropathien steht, die durch Medikamente verursacht werden, z.B. INH-Polyneuropathie (BOONE u. WOODHALL, 1964; OCHOA, 1971).

Diese Axondegeneration bei erhaltener Markscheide trat bei unseren elektronenmikroskopischen Untersuchungen bei extremer Hyperthermie und bei Perfusion mit Melphalan auf und stimmt mit den von SLUGA (1974) beschriebenen Axondegenerationen überein. Zur Einordnung der bekannten Veränderungen in die bei verschiedenen Polyneuropathien beschriebenen Schädigungsmuster ist ein Vergleich mit den in der Literatur angeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen notwendig. Diese wurden beim Menschen an Biopsien des Nervus suralis durchgeführt. Je nach dem Zeitpunkt der Biopsie bzw. dem Stadium einer progredienten Polyneuropathie lassen sich die meisten Polyneuropathien einer primären Axondegeneration zuordnen, da die Mehrheit der neurotoxischen Substanzen eine Auflösung der axonalen Strukturen verursachen (Bischoff, 1967). Dies wird erkennbar an der Schwellung der membranösen Organellen des Axon sowie durch das Entstehen von Clustern und Fragmentation der Neurotubuli und Neurofilamente. Dabei sind die Neurotubuli verwundbarer und lösen sich schneller auf. Weiterhin kommt es

zur Vergrößerung und Desintegration der Mitochondrien (DYCK et al., 1971). In fortgeschrittenen Stadien der Axondegeneration kann es zur Akkumulation von axoplasmatischen Organellen kommen, im Endstadium findet man Ruptur und Fragmentation des Axon begleitet vom Auflösen der Markscheide (JOHANNESSEN, 1979).

Eine immer wiederkehrende Erscheinung chronischer peripherer Neuropathien ist ein starker Verlust an Nervenfasern, insbesondere die Abnahme der Anzahl markhaltiger Nervenfasern und von Nervenfasern mit großem Durchmesser (BRUCKNER u. CHAMBERLAIN, 1970).

Eine Vincristin-Polyneuropathie führt zu einer schweren Axondegeneration markhaltiger und markloser Nerven - vergleichbar den Veränderungen nach Durchtrennung eines Nerven, die zur Wallerschen Degeneration führen (BRADLEY et al., 1970; VALLAT et al., 1973; WULFHECKEL u. DULLMANN, 1972).

Diese nach Quetschung, Unterbindung und Durchtrennung peripherer Nerven auftretende Wallersche Degeneration (THOMAS, 1966) scheint auch bei den von uns beobachteten Veränderungen als Modellfall gelten zu können, zumindest für die Sekundärveränderungen. Dieses Wallersche Syndrom läßt sich an Hand von charakteristischen Veränderungen belegen (SCHROEDER, 1968; THOMAS, 1966; OCHOA, 1971). Mit Beginn nach etwa 6 Stunden (Punktum maximum nach 48 bis 72 Stunden) nach der Schädigung kommt es zur Schrumpfung des Axon mit einem Zerfall der Axonfilamente, wobei sie sich entweder vollständig auflösen oder zu dichten osmiophilen Massen verklumpen.

In gleicher Weise beobachtet man eine Vakuolisierung der Mitochondrien bis zur Lysis und eine Transformation des endoplasmatischen Retikulum in geordnete tubuläre und vesikuläre Formationen. Als Folge des Axonuntergang kommt es zu reparativen bzw. regenerativen Erscheinung-

en an den Schwannschen Zellen. Hierbei kann es sich sowohl um eine Hypertrophie, Anstieg der Zahl der zu meist in Polysomenform zusammengelagerten Ribosomen, Vermehrung des rauen endoplasmatischen Retikulum, Mitochondrienvergrößerung sowie Hyperplasie von Mikrobodies und Lysosomen handeln.

Die Myelinscheiden kollabieren um untergegangene Axone. Die inneren Lamellen splittern oft ab oder verzweigen sich. Weiterhin findet man knopfartige Invaginationen oder Ringform-Bildungen. Die zerbrechende innere Myelinlamelle verbindet sich mit dem untergegangenen Axoplasma, während sich die äußere Lamelle in die Schwannsche Zelle abheben kann und in viele kleine Vesikel umgebildet wird. Diese etwa 400 Å großen Bläschen, die sich zu Myelintropfen vereinigen, findet man in der sich aufspaltenden Myelinscheide. JOHANNESSEN (1979) beschreibt bikonische Spalträume in Markscheiden ab einem Durchmesser von etwa 20 Lamellen als Normalbefund (Schmidt-Lantermann-cleft). Unsere Untersuchungen zeigten bei sehr dicken Markscheiden eine zusätzliche Dekompensation der Lipoproteinschichten, in denen die oben beschriebenen Myelintropfen zu erkennen waren.

Das gewählte Therapiekonzept bzw. die Versuchsanordnung ist somit durchaus geeignet, ein Wallersches Syndrom in Gang zu setzen, wie es bei den verschiedenen Neuropathieformen und in anderen Experimenten ebenfalls auftritt (BOONE u. WOODHALL, 1964; LAMPERT u. PENTSCHEW, 1964; BALLIN u. THOMAS, 1968; OCHOA u. MAIR, 1969; LÜLLMANN-RAUCH, 1974; SLUGA, 1974; KOROBKIN et al., 1975; BISCHOFF et al., 1977; COHEN u. BENSON, 1975; CHARVAT, 1977).

Eine strenge Zuordnung zu einer der von SLUGA (1974 und 1977) beschriebenen Neuropathieformen ist auf

Grund der verschiedenen in unserem Versuch einwirkenden Noxen nicht möglich. Das mit großer Wahrscheinlichkeit auftretende Tourniquet-Syndrom ist für sich schon in der Lage, zu einer Markscheidenschädigung als auch zu einer Axondegeneration zu führen, was sich an Hand der teilweise erheblichen Läsionen bei Perfusion mit Lösungsmittel oder Eigenblut bei niedrigen Temperaturen belegen läßt, da das Lösungsmittel schlechthin inert ist. Dieses Tourniquet-Syndrom führt sekundär zur Wallerschen Degeneration. Hervorzuheben ist hier jedoch die Eigenleistung des Zytostatikum Melphalan, das zum Vergleich zu Eigenblut- und Lösungsmittelperfusion bei normothermen und mittleren Temperaturen hauptsächlich ein Schädigungsmuster vom Typ der desintegrativen und dystrophischen axonalen Neuropathien initiiert. Diese primäre Axondegeneration geht über in eine Markscheidenläsion, was sich an den Veränderungen 5 Tage nach Versuchsdurchführung erkennen läßt. Bei marklosen Nerven zeigen sich charakteristische Veränderungen, die SLUGA (1974 und 1977) bei den sensorischen Neuropathien beschreibt, vor allen Dingen bei Versuchstemperaturen von 40°C und 43°C und im wesentlichen bei Perfusion mit Melphalan (Alkeran^R).

Betrachtet man die Gesamtheit der Versuche, so entspricht das überwiegende Schädigungsmuster am peripheren Nerven der Demyelinisierung (ISOMAKI, 1962; SCHLAEPFER u. HAGER, 1964; COLLINS, 1966; OCHOA, 1971; SLUGA, 1974).

Hier findet man das charakteristische Kollabieren individueller Myelinscheidensegmente, wobei das Axon intakt bleibt. Die segmentale Demyelinisierung läßt sich mit Befunden bei Leukodystrophien, bei der Bleipolyneuropathie und der diabetischen Neuropathie vergleichen (SENEVIRATNE, 1972; JOHANNESSEN, 1979). Verschiedene typische

Erscheinungen nach Demyelinisierung, wie die von BALLIN u. THOMAS (1968), DAS GUPTA (1968), SCHROEDER (1968), DYCK (1969) und TOWFIGHI (1975) beschriebenen Sekundärveränderungen (Basalmembranhyperplasie, Zwiebelschalenformationen, "Bands of Büngner") sind bei unseren Beobachtungen nach 5 Tagen nur in Ansätzen zu erkennen und bedürfen einer Kontrolle nach längerem Zeitraum, wie es bei Patienten nach Perfusion durch eine Biopsie des Nervus suralis und dessen elektronenmikroskopische Beurteilung möglich wäre.

ZUSAMMENFASSUNG

Die regionale extrakorporale hypertherme Zytostatika-perfusion stellt eine neuere Therapieform der malignen Melanome an Extremitäten dar. Bei gleichzeitigem Organ-erhalt hat sie die Überlebensrate verbessert. Tierex-perimentell sind Physiologie und Wirkung auf Experimen-taltumoren erforscht. Morphologische Studien der verfah-rensspezifischen Nebenwirkungen am perfundierten gesun-den Gewebe liegen nicht vor, obwohl die Komplikations-rate passagerer und permanenter Schäden in Therapie wie im Experiment erheblich ist. Unser Versuchskollektiv um-faßt 66 Bastard-Schäferhunde, die vorliegenden Ergebnis-se stützen sich jedoch nur auf 45 Tiere, da 21 (32 %) frühzeitig auf Grund verschiedener Ursachen verstarben. Entsprechend der verschiedenen Perfusionsmedien gliedert sich das 45-er Kollektiv in 3 Gruppen zu je 15 Tieren. Perfundiert wurde mit Eigenblut, mit dem Lösungsmittel Propylenglykol oder mit Lösungsmittel plus Zytostatikum Melphalan (Alkeran^R). Die Perfusionstemperaturen betrugen bei jeweils 5 Tieren 37^o, 40^o bzw. 43^oC. Zur elektronenmi-kroskopischen Untersuchung wurden Gewebeproben aus dem Plexus ischiadicus eines Hinterlaufes entnommen. Der Entnahmezeitpunkt war 1 h post perfusionem (p.p.) und 5 Tage p.p.

Der Beobachtungszeitraum von 5 Tagen p.p. auf Grund der erheblichen Nebenwirkungen war zur Analyse der reaktiven Veränderungen am peripheren Nerven einfach zu kurz. An Hand des vorliegenden Merkmalkatalogs der Veränderun-gen am peripheren Nerven konnten wir neben einem rein axo-nalen Schädigungsmuster einen Markscheidenläsionstyp nachweisen sowie eine Kombination von beiden Formen. Die Myelinscheidenläsion ist dominierend.

Klinik und Pathophysiologie der Reduktion der Nervenleitgeschwindigkeit, die Parästhesien und die Paresen finden somit ein entsprechendes morphologisches Substrat.

Der Pathomechanismus stellt sich als ein komplexes Geschehen dar, wobei dem Zytostatikum Melphalan eine Eigenleistung zugesprochen werden muß. Diese besteht in einem direkten Eingriff in den Metabolismus der Schwannschen Zelle. Weitere Faktoren sind die versuchsspezifischen Bedingungen, die zu einem Tourniquet-Syndrom führen.

Druckwirkung durch das Ödem sowie Veränderungen des Ionenmilieus in der Umgebung des Nerven werden dabei wirksam. Synergistisch wirkt die Ischämie, die durch die Gefäß- bzw. Kapillarkompression entsteht.

Die Perfusionstemperatur ist das Primum movens der Organschädigung, woraus sich ableitet, daß periphere Nerven nicht, wie von HERMANEK (1981) angegeben wird, eine extreme Hyperthermie morphologisch immer schadlos überstehen.

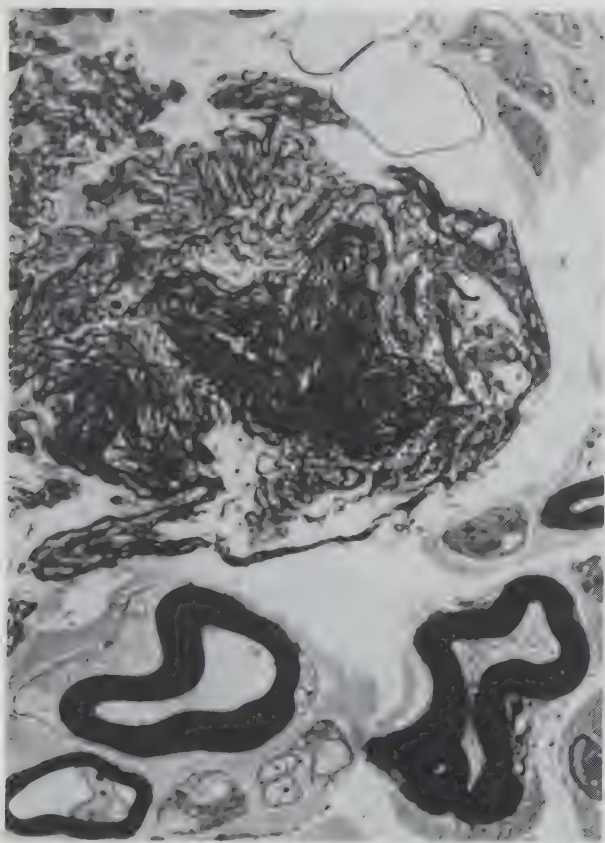


Abb. 1: Neben weitgehend intakten markhaltigen und marklosen Nerven (unteres Bilddrittel) komplette Zerstörung der geschichteten Myelinlamellen. Knäuel- förmige, ungeordnete Zusammenlagerung der Myelinla- mellen mit herdförmigen interlamellären und inter- stitiellen Ödem. Nervenfasern nicht mehr auffind- bar.

N. ischiadicus; 37°C, Alkeran^R, 1 h post perfusio- nem (p.p.); Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylace- tat, Bleicitrat; Vergr. 4800 X

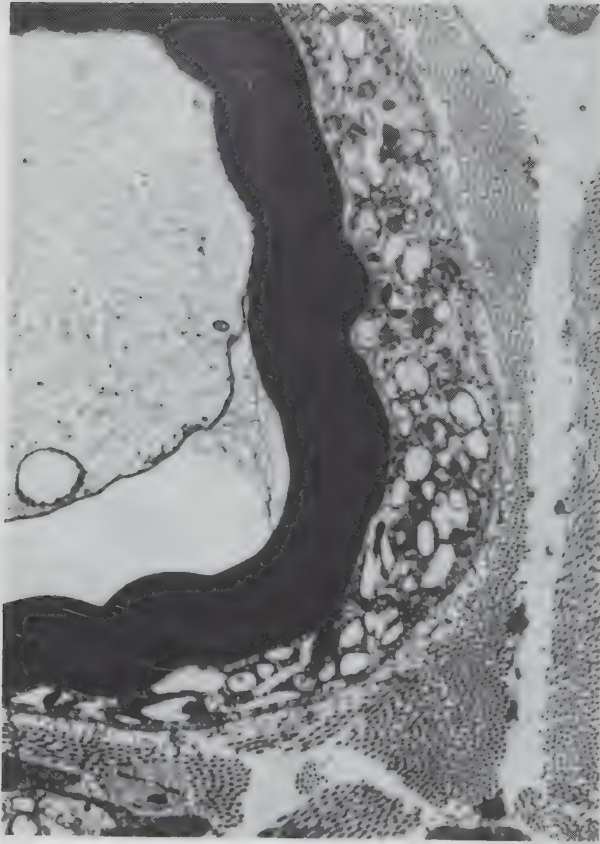


Abb. 2: Verbreitertes Cytoplasma der Schwannschen Zelle mit weitgehender Zerstörung der Mitochondrien (leere Vakuolen). Abhebung des inneren Mesaxon der Markscheide, interlamelläres Ödem des inneren Markscheidendrittels mit herdförmigem Wabenmuster durch Zusammenlagerung von Markscheidenfragmenten. Neurofilamente weitgehend intakt, Destruktion von einem Mitochondrium (Vakuole linker Bildrand). N. ischiadicus; 37°C, Alkeran^R, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 12000 X



Abb. 3: Auflösung der Zirkumferenz der Myelinscheide; teilweise losgelöst Bündel fragmentierter und kondensierter Lamellen innerhalb des Axon, teilweise völliger Verlust der Myelinscheide; äußere Begrenzung zum Endoneurium durch das orthotope Mesaxon. Fragmentation des Axon, nur noch wellenförmige Einzelfragmente und Ödem. Zudem bandförmiges interstitielles Ödem im linken oberen Quadranten in einem myelinlosen Nerven, vakuoläres Ödem in der Umgebung der Axone.
N. ischiadicus; 40°C, Lösungsmittel, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 12000 X



Abb. 4: Teilausschnitt eines bemerkten Nerven. Aufsplitterung der Myelinlamellen, Ruptur und konzentrische Umstrukturierung der Lamellen mit Wirbelbildung. Zusammensinterung des Axonzyllinders, Verlust der Cristae innerhalb der hier gelegenen Mitochondrien.
N. ischiadicus; 40°C, Lösungsmittel, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 22000 X

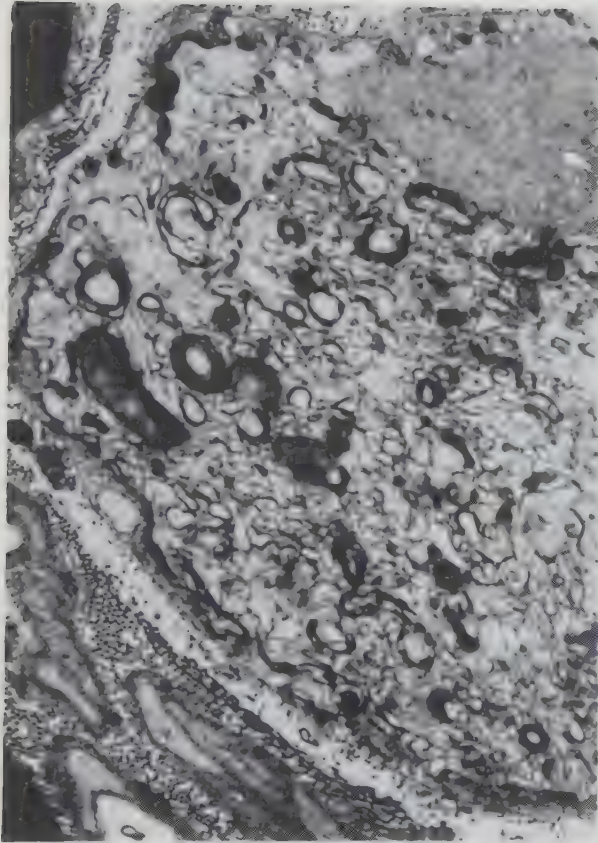


Abb. 5: Am linken unteren Bildrand marklose Nervenanteile von Kollagenfasern umgeben, daran anschließend bandförmige Ödemzone. In den überwiegenden Abschnitten gleichmäßige lineare Basalmembran. Umstrukturierung der Schwannschen Scheide in runde, längsovale, konzentrische Myelinfiguren wechselnder Lamellenbreite sowie Ausbildung tubulärer Lichtungen. Das Axon verkleinert (komprimiert?) mit Zusammenlegung der Achsenzylinder zu feingranulärem Areal (Anschwellen der Schwannschen Scheide).

N. ischiadicus; 40°C, Alkeran^R, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 14000 X

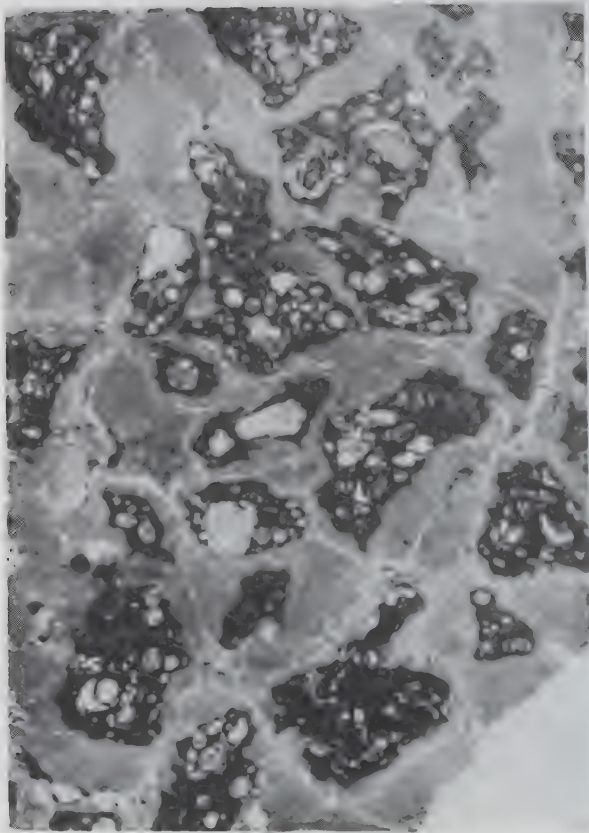


Abb. 6: Gruppe markloser Nerven inmitten von aufgequollenem kollagenfaserdichtem Bindegewebe. Protozoenähnliche Konfiguration der Außenkonturen. Fein- und grobblasige Lysiszonen bei begleitender Kondensation der Grundmatrix.

N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 12000 X

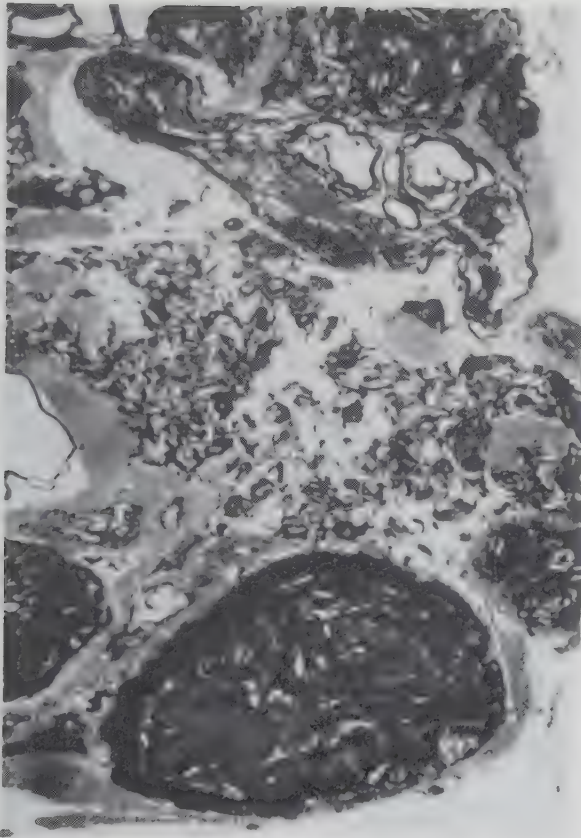


Abb. 7: Totale Zerstörung der äußeren Konturen und grobscholliger Zerfall des Axon und der Myelinscheide. In den noch in der äußeren Begrenzung erhaltenen Abschnitten flächenhafte Homogenisierung.
N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat;
Vergr. 6000 X

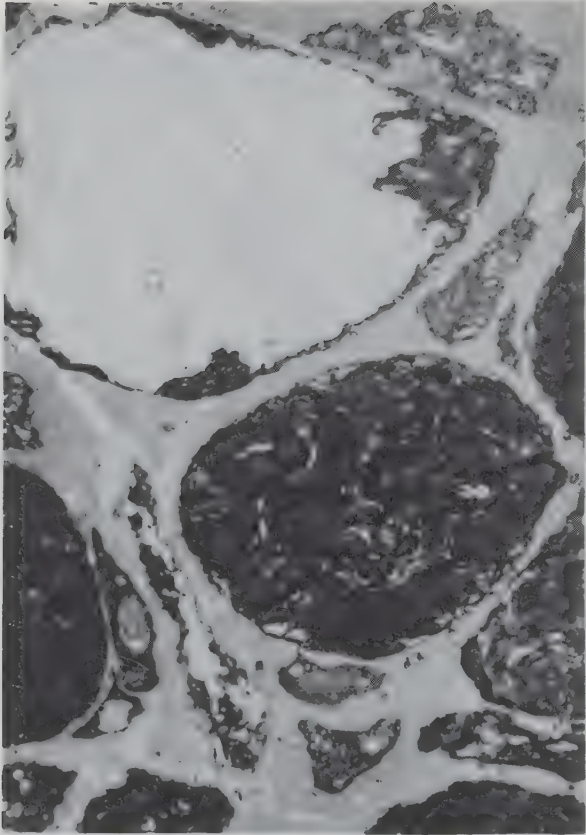


Abb. 8: Diffuse Verklumpung und Umstrukturierung der Markscheiden unter kompletter Verdrängung der Achsenzylinder sowie partieller Lysis der Matrix. Verquollene Kollagenfasern des Endoneuriums. N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 1 h p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 4000 X

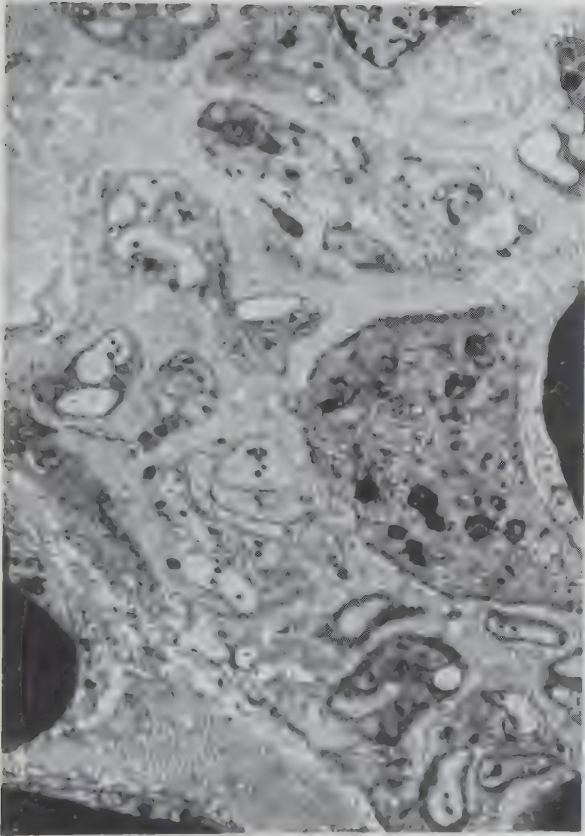


Abb. 9: Mehrere marklose Nerven mit teilweise aufgelösten (optisch hell) und teilweise lamellär kondensierten Neurofilamenten. Zwiebelschalenformationen sowie herdförmige Verklumpung der cytoplasmatischen Organellen. Im rechten oberen Quadranten Umstrukturierung vergleichbar den sogenannten Büngner'schen Bändern.

N. ischiadicus; 40°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 3000 X



Abb. 10: Einzelne kleine Schwannsche Zellen mit aufgetriebenem Cytoplasma bei weitgehend erhaltenen Mitochondrien und regelhafter Menge an Glykogen. Unregelmäßige Ausstülpung der Markscheiden mit teilweise interlamellärer Ödembildung und zebraartiger exzentrischer Verdichtung. Das umgebende Endoneurium hochgradig ödematös aufgelockert.
N. ischiadicus; 40°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 12000 X

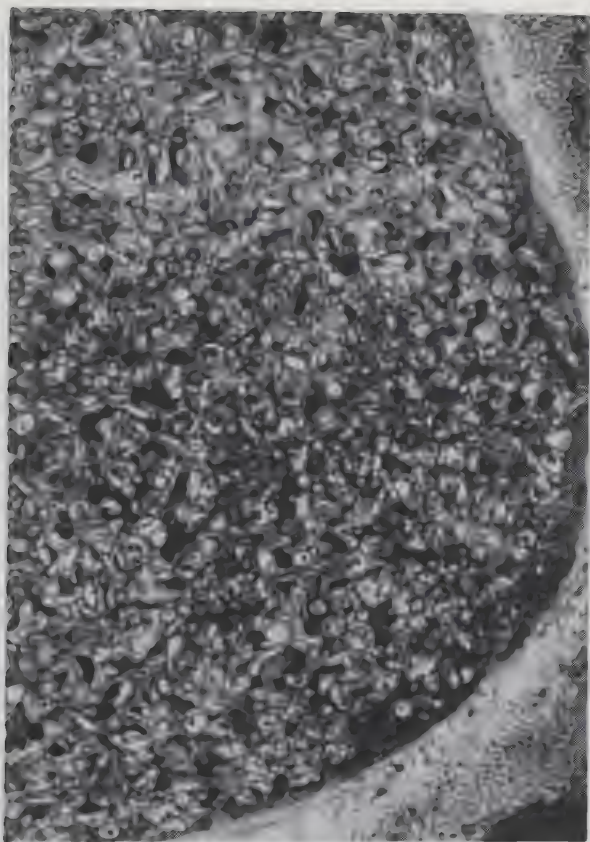


Abb. 11: Ausschnitt einer Schwannschen Zelle (Cytoplasma): Bei erhaltener Basalmembran balloniertes Cytoplasma, das gleichmäßig von dunklen osmiophilen sowie dünnwandigen membranösen Elementen ausgefüllt ist, die wahrscheinlich durch Umlagerung verschiedener nicht mehr identifizierbarer Zellkompartimente entstanden sind.

N. ischiadicus; 40°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 8000 X

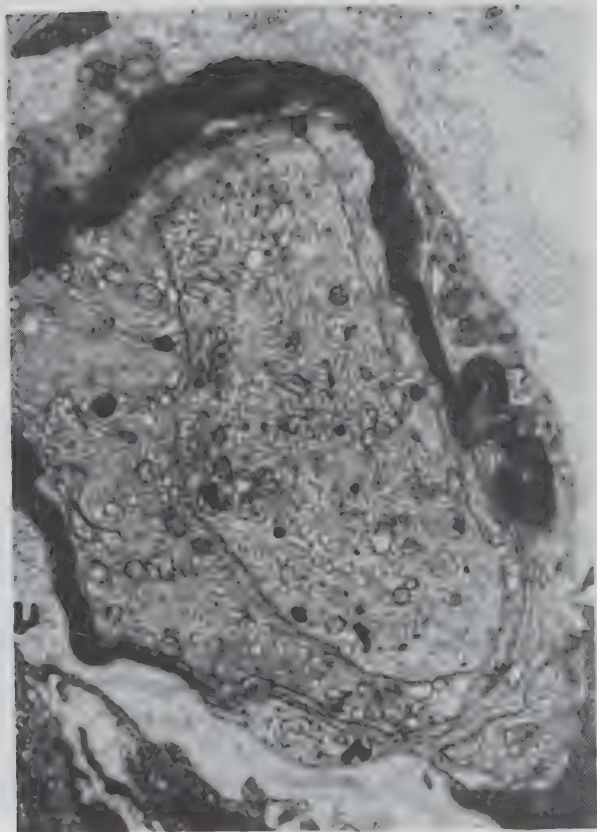


Abb. 12: Partielle Lysis der Markscheiden. Innerhalb des zerstörten Areals zwiebelschalenartige Anordnung der Schwannzellfortsätze (onion-bulb-formation). Einstülpung des Cytoplasma in das Axon, das randständig verdichtete Neurofilamente aufweist. Die Basalmembran noch überall abgrenzbar. Der endoneurale Raum ödematös.
N. ischiadicus; 40°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 18000 X

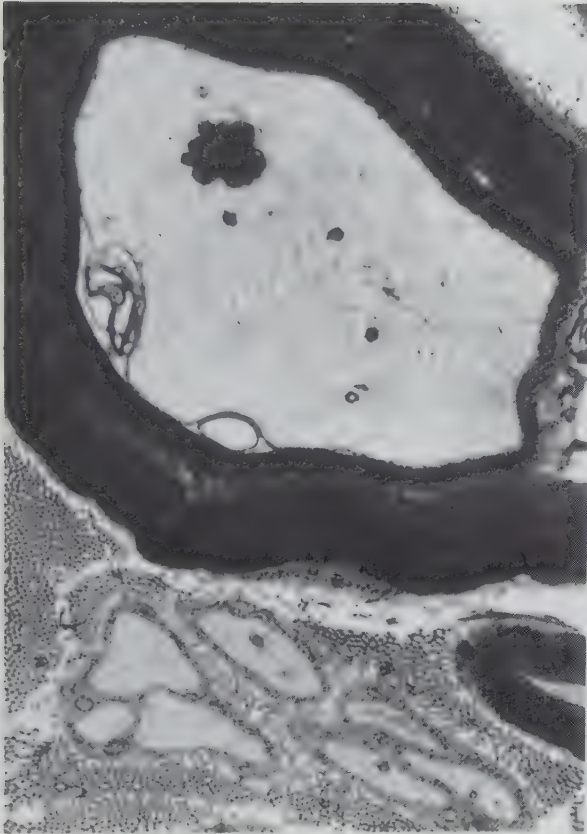


Abb. 13: Homogenisierung der Myelinscheidenlamellen mit unterschiedlicher Abhebung des inneren Drittel, einerseits durch Kondensation, andererseits durch intralamelläres Ödem. Bläschenförmige Abhebung des inneren Mesaxon sowie kugelig kleiner, konzentrisch röhrenförmiger und bizarrer, osmiophiler Körper (Markscheidenanteile?). Im unteren Bild Drittel normale marklose Nervenfasern.
N. ischiadicus; 40°C, Alkeran^R, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 13000 X



Abb. 14: Stärkere Abhebung des inneren Mesaxon und Umlagerung zu Myelinfiguren und in ein Wabenmuster. Zusammendrängung des Axonzylinders mit relativ verdichteten Neurofilamenten. R
N. ischiadicus; 40°C, Alkeran^R, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 13000 X



Abb. 15: Scharfe Demarkierung des mittleren Drittels durch lineare Kondensation bei gleichzeitiger Homogenisierung der Markscheide. Innerhalb des Axon plumpe, bizarre, gewundene und rundliche Verdichtungen (Markscheidenfragmente bzw. kondensierte Neurofilamente).
N. ischiadicus; 40°C, Alkeran^R, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat;
Vergr. 24000 X

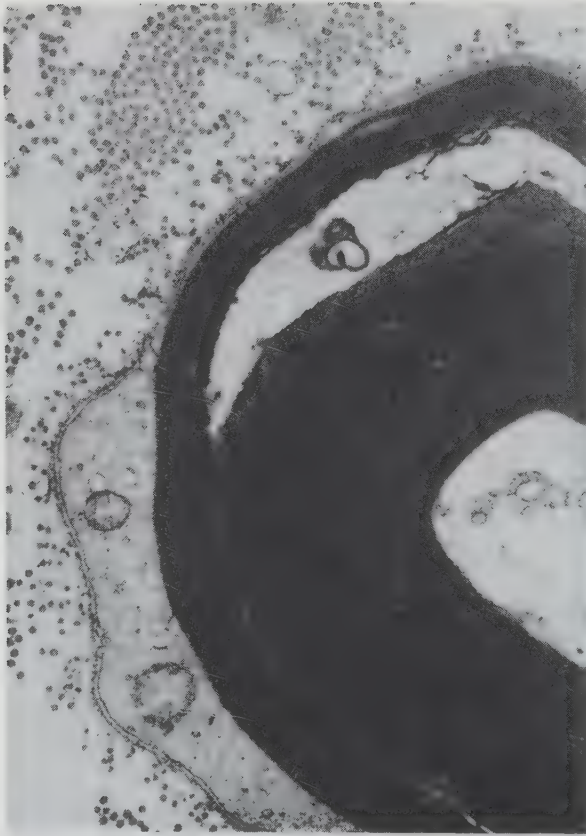


Abb. 16: Scharfe äußere Begrenzung durch kontinuierliche lineare Basalmembran. Sichelförmige Aufspaltung an der Grenze vom äußeren zum mittleren Drittel der Markscheide, beginnende Trennung der Lamellen entlang der periodischen Hauptlinie (major dense line) im gesamten Markmantel. Innerhalb des Spaltraumes Cytoplasmaeinbruch mit konzentrisch umgelagerten Lamellenfragmenten.
N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat;
Vergr. 24000 X



Abb. 17: Wolkige Aufhellung des axonalen Raumes, Abhebung der inneren Myelinlamellen und grobblasige interlamelläre Auflockerung.

N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 40000 X



Abb. 18: Abgehobenes inneres Mesaxon und Ausbildung unterschiedlich großer Hohlräume, die von opaken amorphen Massen ausgefüllt sind. Hierin eingelagert einzelne klecksige und dünnwandig begrenzte Bläschen (feinste Vakuolisierung zwischen den Myelinscheiden). N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 24000 X

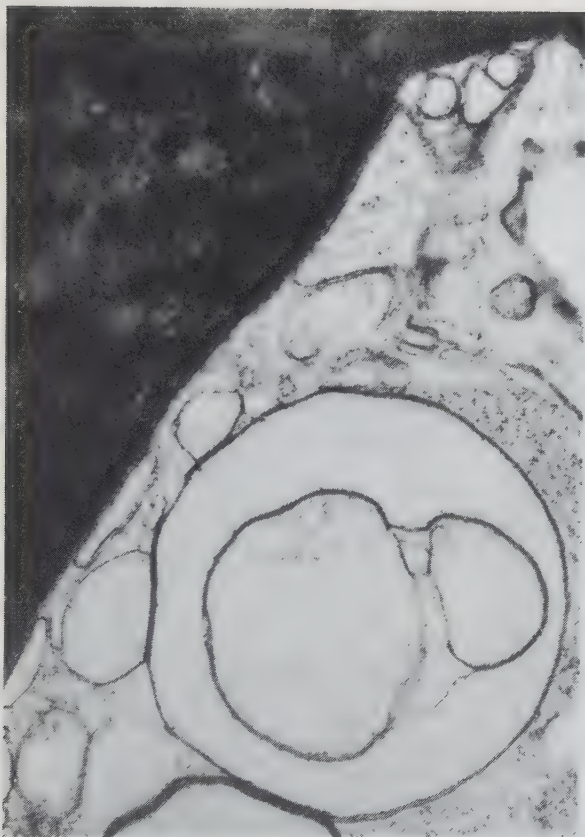


Abb. 19: Abgehobenes inneres Mesaxon und Ausbildung unterschiedlich großer Hohlräume, die von opaken amorphen Massen ausgefüllt sind. Hierin eingelagert einzelne klecksige und dünnwandig begrenzte Bläschen. Ausschnitt von Abb. 18.
N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 44000 X

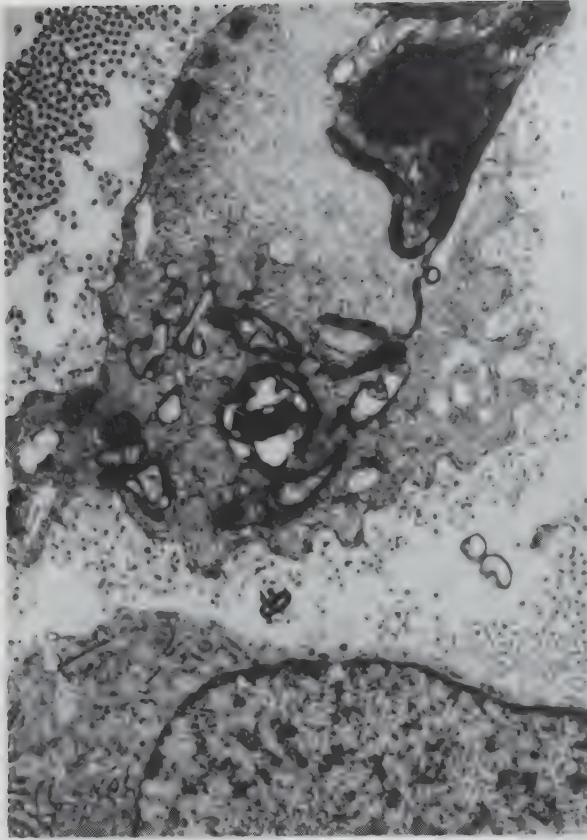


Abb. 20: Gewundene äußere Begrenzung mit fingerartiger Protrusion und scharfer linearer Begrenzung durch kontinuierliche, gleichmäßig breite Basalmembran. Zwischen den Buchten Kollagenfaserbündel (sogenannte Kollagentaschen). Auflösung und Fragmentation sowie Umlagerung zu verschiedenen großen Myelinfiguren der äußeren Markscheide. Homogenisierung der übrigen Binnenmatrix zu feingranulären, schwach osmiophilen Körpern, in denen noch vereinzelt zerstörte Mitochondrien erhalten sind.
N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 20000 X



Abb. 21: Gleichmäßig breite, von einer kontinuierlichen Basalmembran begrenzte Myelinscheide, die weitgehend zerstörte Achsenzylinder umschließt. Im axonalen Raum netzförmige Zusammensinterung von Membranteilen (Neurotubuli, Neurofilamente, Mitochondrien), die von einer hellen, wolkigen Grundsubstanz umgeben sind. Keine intakten Neurofilamente, keine intakten Mitochondrien.

N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 24000 X

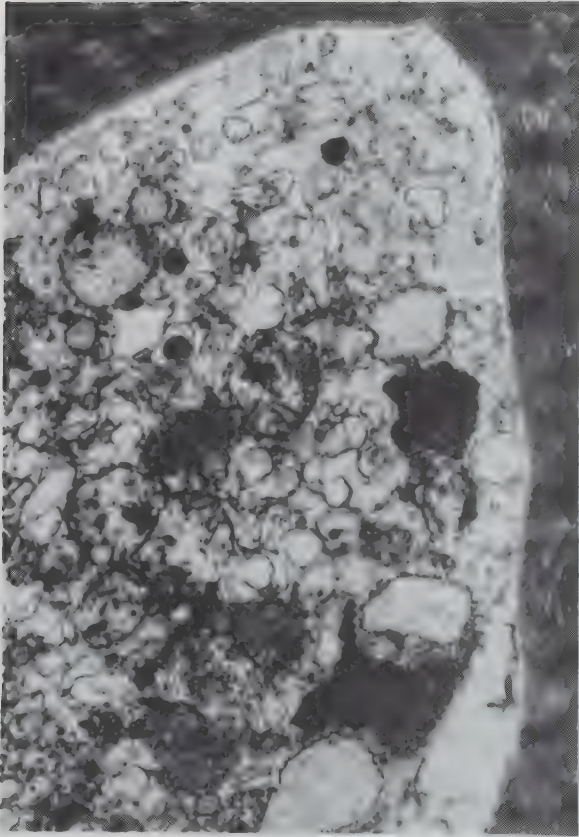


Abb. 22: Feingranuläre Verklumpung der Mitochondrien und Vermehrung vesikulärer Formationen (aufgequollene Neurotubuli) bei weitgehend erhaltener Markscheide. In einzelnen Mitochondrien noch erhaltene Cristae. N. ischiadicus; 43°C, Eigenblut, 5 Tage p.p.; Glutaraldehyd, Osmiumsäure, Uranylacetat, Bleicitrat; Vergr. 38000 X

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Ardenne v. M (1981) Krebs-Mehrschritt-Therapie.
Deutsches Ärzteblatt 33: 1560
- 2 Baba T, Aoki K, Kidera Y, Kimura M, Kanematsu T,
Kimura N T (1976) Temporary interruption of
regional blood flow combined with local hyper-
thermia for cancer chemotherapy. Cancer Res 36:
2146
- 3 Ballin R H M, Thomas P K (1968) Hypertrophic changes
in diabetic neuropathy. Acta Neuropathol 11: 93
- 4 Bischoff A (1967) The ultrastructure of tri-ortho cre-
syl phosphate poisoning. 1. Studies on myelin and
axonal alterations in the sciatic nerve. Acta
Neuropathol 9: 158
- 5 Bischoff A, Meier C, Roth F (1977) Gentamicin Neuro-
toxizität. Schweiz med Wschr 107: 3
- 6 Boone S C, Woodhall B (1964) The ultrastructural
changes induced by H_2N in the sciatic nerve.
J Surg Res 4: 413
- 7 Bruckner F E, Chamberlain M A (1970) Rheumatoid neu-
ropathy: A histological and electrophysiological
study. J Neurol Neurosurg Psychiat 33: 592
- 8 Bradley W G, Lassmann L P, Pearce G W, Walton J N
(1970) The neuromyopathy of vincristine in man:
Clinical, electrophysiological and pathological
studies. J Neurol Sci 10: 107

- 9 Bruns P (1887) Die Heilwirkung des Erysipels auf
 Geschwülste. Beitr klin Chir 3: 443
- 10 Busch W (1866) Über den Einfluß, welchen heftigere
 Erysipeln zuweilen auf organisierte Neubildungen
 ausüben. Verh Naturh Preuss Rhein Westphal
 23: 28
- 11 Cavaliere R, Ciocatto E C, Giovannella B C, Heidel-
 berger C, Johnson R O, Margottini M, Mondovi
 B, Moricca G, Rossi-Fanelli A (1967) Selective
 heat sensitivity of cancer cells. Cancer Philad
 20: 1351
- 12 Charvat Z (1977) Ultramikroskopische Veränderungen
 der Hautnerven des Meerschweinchens nach einmaliger
 Injektion von physiologischer Tyrodescher
 Lösung. In: Lassmann G, Jurecka W, Niebauer G
 (Hrsg) Struktur und Pathologie des Hautnerven-
 systems. Verlag des Verbandes der wissenschaft-
 lichen Gesellschaften Österreichs. Wien XX
- 13 Cohen A S, Benson M D (1975) Amyloid neuropathy. IN:
 Dyck P J, Thomas P K, Lambert E H (Hrsg) Peri-
 pheral Neuropathy, vol II. Saunders, Philadel-
 phia: 1067
- 14 Coley W B (1906) Late results of the treatment of in-
 operable sarcoma by the mixed toxins of erysipe-
 las and bacillus prodigosus. Am J Sci 131: 375
- 15 Collins G H (1966) An electronmicroscopic study of
 remyelination in the brainstem of thiamin defi-
 cient rats. Am J Path 48: 259

- 16 Das Gupta T K (1968) Experimental hypertrophic neuropathy: an electron microscope study. J Neurol Neurosurg Psychiat 31: 34
- 17 David H (1967) Veränderungen bei degenerativen und regenerativen Vorgängen. In: David H (Hrsg) Elektronenmikroskopische Organpathologie. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin: 335
- 18 Dietzel F (1978) Thermo-Radio-Therapie. Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore
- 19 Dyck P J (1969) Experimental hypertrophic neuropathy Pathogenesis of onion bulb formations produced by repeated tourniquet application. Archs Neurol 21: 73
- 20 Dyck P J, Johnson W J, Lambert E H, O'Brien P C (1971) Segmental demyelination secondary to axonal degeneration in uraemic neuropathy. Mayo Clin Proc 46: 400
- 21 Field S B, Bleehen N M (1979) Hyperthermia in the treatment of cancer. In: Hellmann K, Carter S K (Hrsg) Cancer Treatment Reviews, Vol 6: 63 Academic Press, London New York San Francisco
- 22 Gerweck L, Rottinger E (1976) Enhancement of mammalian cell sensitivity to hyperthermia by pH alteration. Radiat Res 67: 508
- 23 Goetze O, Schmidt K H (1931) Örtliche homogene Überwärmung gesunder und kranker Gliedmaßen. Dt Z Chir 234: 623

- 24 Goss P, Parsons P G (1977) The effect of hyperthermia and melphalan on survival of human fibroblast strains and melanoma cell lines. Cancer Res 37: 152
- 25 Hermanek P (1981) Tierexperimentelle Untersuchungen zur hyperthermen Zytostatikaperfusion unter dem besonderen Aspekt der Schädigung des peripheren Nerven. Inauguraldissertation, Erlangen 1981
- 26 Hirsch G C (1973) Grundlagen der Cytologie. Gustav Fischer, Stuttgart
- 27 Honjin R, Takahashi A (1962) Electron microscopy of nerve fibers. On the myelin changes in the peripheral myelinated nerve fibers during Wallerian degeneration. J Electronmicrosc 11: 139
- 28 Hahn G M (1978) Interactions of drugs and hyperthermia in vitro and in vivo. In: Streffer C (Hrsg) Cancer Therapy by Hyperthermia and Radiation Urban&Schwarzenberg, Baltimore München: 72
- 29 Isomaki A M, Bergström R M, Kivalo E (1962) Ultrastructural changes in the sensory nerve fibers in the skin of the frog after circumscribed radiation with Po^{210} alpha-particles (5,3MeV). Acta path Scand 54: 190
- 30 Iwashita H, Argyrakakis A, Lowitzsch K, Spaar F W (1974) Polyneuropathy in Waldenströms macroglobulinaemia. J Neurol Sci 21: 341
- 31 Johannessen J V (1979) Electron Microscopy in Human Medicine Vol 6. Mc Graw-Hill Book Company: 152

- 32 Korobkin R, Asbury A K, Sumner A J, Nielsen S L (1975)
Glue-sniffing neuropathy. *Archs Neurol* 32: 158
- 33 Kropp W (1983) Das Schädigungsmuster der Arterien
und Venolen nach extrakorporaler hyperthermer
Extremitätenperfusion. Inauguraldissertation,
Erlangen 1983
- 34 Lampert P W, Pentschew A (1964) An electron micro-
scopic study of dystrophic axons in the gracil
and cuneate muscle of vitamin-C deficient rats.
J Neuropath Exper Neurol 23: 60
- 35 Lüllmann-Rauch R (1974) Lipidosis-like alterations
in spiral cord and cerebellar cortex of rats
treated with chlorphentermine or tricyclic anti-
depressants. *Acta Neuropathol* 29: 237
- 36 Mondovi B, Agro A F, Rotilio G, Strom R, Moricca G,
Rossi-Fanelli A (1969) The biochemical mechanism
of selective heat sensitivity of cancer cells.
II. Studies on nucleic acids and protein syn-
thesis. *Eur J Cancer* 5: 137
- 37 Moritz A R, Henriques F C (1947) Studies of thermal
injury, relative importance of time and surface
temperature in causation of cutaneous burns.
Am J Path 23: 695
- 38 Morris C C, Meyers R, Field S B (1977) The response
of the rat tail to hyperthermia.
Br J Radiol 50: 576
- 39 Novikoff A B (1965) Lysosomes and other cell organel-
les following sciatic nerve crush. *Am J Path* 46:4

- 40 Ochoa J (1971) Isoniazid neuropathy in man: quantitative electron microscope study. *Brain* 93: 831
- 41 Ochoa J, Mair W G P (1969) The normal sural nerve in man. I. Ultrastructure and numbers of fibers and cells. II. Changes in the axons and Schwann cells due to ageing. *Acta Neuropathol* 13: 197
- 42 Ochoa J, Schilling K, Brimijoin W S, Lambert E H, Fairbanks V F, Dyck P J (1977) Lead neuropathy. Morphometry, nerve conduction and cholinacetyltransferase transport: New finding of endoneurial edema associated with segmental demyelination. *J Neuropath Exp Neurol* 36: 499
- 43 Rossi-Fanelli A, Cavaliere R, Mondovi B, Morrica G (1977) Selective Heat Sensitivity of Cancer Cells In: Rentchick P (Hrsg) *Recent Results in Cancer Research* 59. Berlin Heidelberg New York, Springer
- 44 Scherer E (1979) Stand und Möglichkeiten der radiologischen Onkologie. In: Tonak J (1981) *Die hypertherme Zytostatikaperfusion beim malignen Melanom*. In: Nagel C, Sauer R, Schreiber H W (Hrsg) *Aktuelle Onkologie I München, Zuckschwerdt*
- 45 Schraffordt-Koops H, Oldhoff J, van der Ploeg E, Vermey A, Eibergen R (1975) Isolated regional perfusion in the treatment of malignant melanomas of the extremities. *Arch chir neerl* 237
- 46 Schraffordt-Koops H, Oldhoff J, van der Ploeg E, Vermey A, Eibergen R, Beekhuis H (1977) Some aspects of the treatment of primary malignant

of the extremities by isolated regional perfusion. Cancer 39: 27

- 47 Schröder J M (1968) Die Hyperneurotisation Büngner-scher Bänder bei der experimentellen Isoniazid-Neuropathie: Phasenkontrast- und elektronen-mikroskopische Untersuchungen. Virchows Arch Abt B Zellpath 1: 131
- 48 Seneviratne K N (1972) Permeability of blood nerve barriers in the diabetic rat. J Neurol Neurosurg Psychiat 35: 156
- 49 Sluga E (1974) Polyneuropathien. Typen und Differenzierung. Ergebnisse bioptischer Untersuchungen. Schriftenreihe Neurologie 14 Berlin Heidelberg New York, Springer
- 50 Sluga E (1977) Feinstrukturelle Veränderungen peripherer Nerven bei Neuropathien unter besonderer Berücksichtigung der sensorischen Neuropathien. In: Lassmann G, Jurecka W, Niebauer G (Hrsg) Struktur und Pathologie des Hautnervensystems. Verlag des Verbandes der wissenschaftlichen Gesellschaften Österreichs, Wien XXXI
- 51 Stehlin J S (1979) Eleven years' experience with hyperthermic perfusion for melanoma of the extremities. Wld J Surg 3: 305
- 52 Stockinger L, Lassmann H, Jurecka W (1977) Zur Ultrastruktur cutaner Nerven. In: Lassmann G, Jurecka W, Niebauer G (Hrsg) Struktur und Pathologie des Hautnervensystems. Verlag des Verban-

des der wissenschaftlichen Gesellschaften
Österreichs, Wien III

- 53 Takano I (1964) Electron microscopic studies on retrograde chromatolysis in the hypoglossus nerve, following its severance and ligation. Okajimas Fol Anat Jap 40: 1
- 54 Thomas P K (1966) Schwann cell outgrowth from degenerating peripheral nerve. 5. International Congr of Neuropath, Zürich 1965: 854
- 55 Tonak J (1981) Die hypertherme Zytostatikaperfusion beim malignen Melanom. Eine experimentelle und klinische Untersuchung. In: Nagel G, Sauer R, Schreiber H W (Hrsg) Aktuelle Onkologie 1 München, Zuckschwerdt
- 56 Towfighi J (1975) Onion bulb neuropathies. Archs Neurol 32: 250
- 57 Twentyman P R, Bleeher N M (1975) Studies of potentially lethal damage in EMT 6 mouse tumour cells treated with bleomycin either in vitro or in vivo. Br J Cancer 32(4): 491
- 58 Vallat J M, Vital C, Vallat M, Julien J, Riemens V, Le Blanc M (1973) Neuropathie périphérique à la vincristine. Etude ultrastructurale d'une biopsie du muscle et du nerf périphérique. Revue Neurol 129: 365

- 59 Warnick J E, Albuquerque E X, Guth L (1977) The demonstration of neurotrophic function by application of colchicine or vinblastine to the peripheral nerve. *Exp Neurol* 57(2): 622
- 60 Westra A, Dewey W C (1971) Variation in sensitivity to heat shock during the cell cycle of chinese hamster cells in vitro. *Int J Radiat Biol* 19: 467
- 61 Wulfheckel U, Dullmann J (1972) Ein licht- und elektronenmikroskopischer Beitrag zur Vinca-alkaloid-Polyneuropathie. *Virchows Arch Abt A Path Anat* 357: 163

Herrn Prof. Dr. V. Becker danke ich für
die freundliche Bereitstellung eines
Arbeitsplatzes.

Herrn Prof. Dr. B. Kaduk danke ich
vielmals für die Überlassung des Themas
und die Unterstützung bei der Durchführung
der Arbeit, insbesondere für die freund-
liche Hilfe bei der Auswertung der elek-
tronenmikroskopischen Aufnahmen.

LEBENS LAUF

Joachim Lux

geboren am 6.2.1952 in Bad Salzuflen als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Joachim Lux und der Kauffrau Ingrid Lux.

1958 Einschulung in die Volksschule Bad Salzuflen - Schötmar.

1962 Wechsel auf das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Bad Salzuflen.

1970 Abitur in Bad Salzuflen, anschließend 10 Monate Praktikum am Kreiskrankenhaus Herford.

1971 Aufnahme des Chemiestudiums an der Universität Göttingen.

1972 Wechsel an die Freie Universität Berlin.

1975 Vordiplom der Chemie.

1976 Zulassung zum Medizinstudium an der Friedrich - Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

August 1977 Ärztliche Vorprüfung.

November 1981 Staataexamen und Approbation.

Wehrdienst als Stabsarzt beim Panzerbataillon 334 in Celle.

Seit dem 1.4.1983 als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Anaesthesiologie der Universität Erlangen-Nürnberg beschäftigt.

